

HPLC 测定止痒乳膏中间体中黄芩苷的含量

朱红,周旭,张诗龙,周燕萍,刘峰群*

(中国人民解放军第 302 医院药学部,北京 100039)

[摘要] 目的:采用高效液相色谱法测定止痒乳膏中间体中黄芩苷的含量。方法:采用 Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱,以甲醇-0.37% 磷酸为流动相,梯度洗脱,检测波长 280 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹。结果:黄芩苷在 0.0792~0.792 μg 线性关系良好($r^2=0.9999$),回收率 98.87%,RSD 1.14% ($n=6$);监测 3 批止痒乳膏中间体表明:黄芩水提取物中黄芩苷的含量分别为 5.75,6.08,5.94 g·L⁻¹。结论:方法稳定、灵敏、准确,能够有效的监控上述中间体的质量,可作为该制剂生产过程中质量控制。

[关键词] 止痒乳膏;黄芩苷;高效液相色谱法;中间体

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0106-03

Determination of Baicalin in Relieving Itching Cream Intermediate Products by HPLC

ZHU Hong, ZHOU Xu, ZHANG Shi-long, ZHOU Yan-ping, LIU Feng-qun*

(Department of Pharmacy, 302 Hospital of People's Liberation Army LA, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a high performance liquid chromatographic method (HPLC) for determination of baicalin in relieving itching cream intermediate products. **Method:** Agilent Eclipse Plus C₁₈ column was used to separate the analyte with a mobile phase consisting of methyl alcohol and 0.37% phosphoric acid at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 280 nm. **Result:** Baicalin showed good linearity ($r^2=0.9999$) in the range of the tested concentration (0.0792-0.792 μg); the average recovery of the method was 98.87% with RSD 1.14% ($n=6$). This method was used to successfully determine 3 batches relieving itching cream intermediate products, the content of baicalin in aqueous extract of *Scutellaria Baicalensis* was 5.75, 6.08, 5.94 g·L⁻¹. **Conclusion:** This is a more stable, sensitive and precise method for monitoring relieving itching cream intermediate products, which could also be used as the quality control method for the process of the relieving itching cream.

[Key words] relieving itching cream; baicalin; HPLC; intermediate product

止痒乳膏是以黄芩、蜂胶、甘草等中药材制备而成的复方制剂,具有清热燥湿,泻火解毒^[1],收敛生肌,抗炎,抗变态反应及止痒的作用^[2]。为进一步提高止痒乳膏的质量,减少重复检查,缩短生产周

期,本研究对中间体黄芩水提取物中黄芩苷的含量测定进行研究。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司,配有 G1322A 型在线脱气机,G1311A 型四元泵,G1313A 型自动进样器,G1316A 型柱温箱,G1315A 型二极管阵列检测器)。甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。黄芩苷对照品(批号 110715-200212)购于中国药品生物制品检定所。样品自制。

2 方法

2.1 溶液的制备

[收稿日期] 20120528(378)

[第一作者] 朱红,药师,硕士,从事中药制剂研发,Tel:010-66933230,E-mail: zhuHong366@163.com

[通讯作者] *刘峰群,主任药师,医学学士。从事中药活性成分及其质量控制、新药研究与应用。Tel: 010-66933230

2.1.1 对照品溶液 取黄芩苷对照品适量,精密称定,制成每1 mL含0.936 mg的溶液,即得对照品储备液。用2.0 mL移液管精密量取对照品储备液1.06 mL,置25 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,即得对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 精密量取样品(黄芩药材用水煎煮两次合并得到的滤液,水煎液浓度为 $17.3\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$)5 mL,水浴蒸干,加70%乙醇使溶解定量转移至100 mL量瓶中,以70%乙醇定容,摇匀。精密量取1 mL,置于10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2 色谱条件与系统适用性试验 安捷伦 Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.37%磷酸(B),梯度洗脱(0~20 min, 45% A, 20~30 min, 45%~95% A, 流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长280 nm,进样量10 μL 。在此条件下能将黄芩苷与杂质分离,并能在检测时间内将杂质洗脱完全(图1)。

3 结果

3.1 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品溶液($0.0396\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)2,5,10,15,20 μL ,按上述色谱条件进样,测定峰面积。以峰面积为纵坐标,黄芩苷进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 3318.2X - 2.3017$ ($r^2 = 0.9999$),表明黄芩苷在0.0792~0.792 μg 具有良好的线性关系。

3.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液10 μL ,重复进样6次,测定黄芩苷峰面积值,计算RSD 0.15% ($n=6$),结果表明仪器的精密度良好。

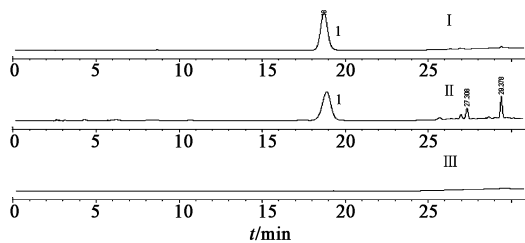
3.3 稳定性试验 取同一批供试品溶液,分别于配制后0,2,4,8,24 h进样10 μL ,测定黄芩苷峰面积,计算RSD 1.89%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

3.4 重复性试验 精密量取同一批样品(20120320)6份,分别依2.1.2项下方法制备成供试品溶液,每份供试品进样10 μL ,测定黄芩苷峰面积,计算黄芩苷的含量为 $5.75\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,RSD 2.48%,表明方法的重复性良好。

3.5 加样回收试验 精密量取已知含量同一批样品(批号20120320,黄芩苷 $5.75\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)的样品2.5 mL,平行6份,分别精密加入黄芩苷对照品储备溶液($0.936\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)25.0 mL,水浴蒸干,加70%乙醇使溶解定量转移至100 mL量瓶中,以70%乙醇定容,摇匀。精密量取1 mL,置于10 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取

续滤液,测定结果见表1。

3.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL 进样,记录色谱图,计算3批中间体中黄芩苷的含量,见表2。



1. 黄芩苷; I. 对照品; II. 供试品; III. 空白

图1 止痒乳膏中间体 HPLC

表1 止痒乳膏中间体中黄芩苷加样回收试验($n=6$)

取样量 / mL	样品含量 / mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
2.5	14.38	23.40	37.87	100.38	98.87	1.14
2.5	14.38	23.40	37.77	99.96		
2.5	14.38	23.40	37.33	98.08		
2.5	14.38	23.40	37.13	97.22		
2.5	14.38	23.40	37.35	98.16		
2.5	14.38	23.40	37.65	99.44		

表2 3批中间体中黄芩苷含量($n=3$)

批号	黄芩苷含量 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	平均含量 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	RSD / %
20120320	5.75		
20120321	6.08	5.92	2.28
20120322	5.94		

4 讨论

在以往对黄芩的研究中,多以总黄酮作为指标^[3-4],而现代药理学研究表明,黄芩苷是黄芩药材发挥解热、抗炎等作用的主要成分^[5-6],因此本试验选取黄芩苷作为止痒乳膏中间体黄芩水提取的质控指标。红外光谱^[7]、紫外光谱^[8]以及液相色谱技术^[9-11]都可以用来测定黄芩苷的含量。而色谱技术操作简单,分析时间短,适合于制剂工业生产过程中的质量控制。《中国药典》2010年版也采用色谱技术作为黄芩药材中黄芩苷的含量测定方法^[1]。

先后考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸和乙腈-磷酸等系统对样品的分离情况。文献报道可使用多种流动相分离黄芩苷并达到较好的与杂质的分离效果^[12-14]。也有文献报道采用甲醇-水系统也能取得良好的分离效果^[15]。但是本研究发现,在止痒

乳膏中间品黄芩苷的测量中使用甲醇-水、乙腈-水系统分离得到的峰形较差,而乙腈较甲醇洗脱能力强,样品中黄芩苷峰与杂质峰不能得到完全分离,因此最终选择甲醇-磷酸系统作为流动相。

对 3 批中间品监测结果表明,生产过程中黄芩两次水提物中黄芩苷的含量较为稳定(RSD 2.28%),符合内控标准,生产工艺重复性较好。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010;282, 336.
[2] 王英杰. 复方甘草酸苷的皮肤科临床应用[J]. 皮肤病与性病, 2011, 33(2): 87.
[3] 曾朝珍, 刘志祥, 韩磊. 黄芩总黄酮提取技术及其抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6):1342.
[4] 王春民, 刘刚, 费艳, 等. 大孔吸附树脂法纯化黄芩总黄酮工艺的研究[J]. 中草药, 2010, 41(1): 58.
[5] 范书铎, 赵红艳, 王翠花, 等. 黄芩苷对发热大鼠解热作用的实验研究[J]. 中国医科大学学报, 1995, 24(4):358.
[6] 侯艳宁, 朱秀媛, 程桂芳. 黄芩苷的抗炎机理[J]. 药学报, 2000, 25(3):161.
[7] 张威, 白雁, 雷敬卫, 等. 近红外光谱法测定黄芩提取物中黄芩苷含量[J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(12):1697.

[8] 陈玲, 张涛. 紫外分光光度法测定解毒合剂中黄芩苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(2):167.
[9] 费超, 陈然, 曹杰, 等. HPLC 测定芩翘抗感颗粒中黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):63.
[10] 张培琴, 苏松柏, 张建玲. HPLC 测定清金化痰汤中黄芩苷和栀子苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):69.
[11] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6):48.
[12] 李晓明, 罗毓健, 袁媛, 等. 高效液相色谱法测定黄芩愈伤组织中黄芩苷、黄芩素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):1.
[13] 文友民, 杨小英, 马晓艳. 痰热清注射液的稳定性研究及其与氨基糖苷类药物的配伍观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1):33.
[14] 郭武艳, 孔焕宇, 朱嘉, 等. 不同制备工艺银黄方中有效成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):8.
[15] 黄其春, 涂文升. HPLC 法测定痰热清注射液中黄芩苷的含量[J]. 中国药房, 2008, 19(30): 2388.

[责任编辑 顾雪竹]